59.95

Hämolytische Fähigkeit einzelner pathogener Schizomyceten.

Inaugural-Dissertation

der

medizinischen Fakultät zu Königsberg i. Pr.

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

am Donnerstag den 10. Oktober 1901, mittags 12 Uhr

vorgelegt und öffentlich verteidigt von

Carl Lubenau,

prakt. Arzt.

Jena,

Gustav Fischer

1901.

Hämolytische Fähigkeit einzelner pathogener Schizomyceten.

Inaugural-Dissertation

der

medizinischen Fakultät zu Königsberg i. Pr.

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

am Donnerstag den 10. Oktober 1901, mittags 12 Uhr

vorgelegt und öffentlich verteidigt von

Carl Lubenau,

prakt. Arzt.

Jena,

Gustav Fischer

1901.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Königsberg i. Pr.

Referent: Prof. Dr. R. Pfeiffer.

Memoriae patri sacrum.

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/hamolytischefahi0000care

Durch die folgenden Versuche, zu denen ich von Herrn Dr. Petruschky angeregt worden bin, sollte zunächst die Behauptung von Neisser und Wechsberg[1]): „daß das Hämolysin ein konstantes Merkmal des typischen Staphylococcus aureus ist", nachgeprüft werden, sodann wurden aber die hämolytischen Versuche auch auf 7 Diphtheriestämme, 10 Streptokokkenstämme und einige andere Schizomyceten, worunter besonders der Bacillus pyocyaneus wegen seiner starken hämolytischen Eigenschaft und der Micrococcus tetragonus Erwähnung verdient, erstreckt. Ferner wurde noch auf besonderen Wunsch von Herrn Dr. Petruschky die hämolytische Wirkung einzelner Substanzen, die auch als Stoffwechselprodukte der Schizomyceten auftreten können, und die in einfacher bis zum Lakmuspunkt neutralisierter Extraktnährbouillon in verschiedenem Prozentgehalt aufgelöst wurden, untersucht.

Die Methodik wurde analog den Versuchen von Neisser und Wechsberg gestaltet. Diese hatten beobachtet, daß in Röhrchen, die mit 2 ccm Bouillon beschickt und mit einem Staphylococcus beimpft waren, vom 3. oder 4. Tage an nach Zusatz eines Bluttropfens Auflösung der Erythrocyten zu beobachten war, am besten, wenn man diese Röhrchen nach einem Aufenthalte von 2 Stunden im Brütschrank (37°) weitere 18 Stunden in den Eisschrank stellte. Nachdem einmal festgestellt war, daß die Alkalität der Bouillon einen Einfluß auf die Produktion des Staphylolysins besaß, wurde durch vergleichende Versuche konstatiert, daß eine Bouillon, von der nur $^2/_6$, höchstens $^3/_6$ der Säuremenge alkalisiert war, die die Bouillon zur Neutralisation bis zum Phenolphtaleïnpunkt nötig hatte, die günstigste für die Hämolysinproduktion war. Ferner wurden verschiedene Blutarten miteinander verglichen in Bezug auf das Resultat, das nach ihrem Zusatz zu der Bouillon zu erlangen war. Hierbei ergab sich, daß dem Serum verschiedener Blutarten, wie von Hammel, Gans, Ziege, Meerschweinchen, insbesondere aber von Mensch und Pferd, ein natürliches Antihämolysin zukommt, welches diese Erythrocyten in ungewaschenem Zustande für obige Versuche als Indikator ungeeignet macht. Als besonders empfindlich gegenüber dem Staphylolysin erwiesen sich die Kaninchenerythrocyten auch in nicht gewaschenem Zustande. Es wurde daher der Einfachheit halber nur diese Blutart gewählt; ein Unterschied zwischen dem

1) Neisser und Wechsberg, Ueber das Staphylotoxin.

Blut verschiedener Kaninchen fand sich nur bei Einstellung der Grenze „Null“, was Neisser und Wechsberg mit der Annahme erklärten, daß einige Blutarten verschiedener Kaninchen ganz besonders empfindliche Erythrocyten gegenüber dem Staphylolysin in verhältnismäßig großer Zahl besaßen; da aber diese Verschiedenheit nur bei Einstellung der Grenze „Null“ sich zeigte, war sie für die Beurteilung der Resultate untereinander wenig störend. Bei der definitiven Art der Untersuchung wurden Kölbchen mit 50 ccm Bouillon Inhalt angelegt, mit verschiedenen Staphylokokkenstämmen besät und diese 9—13 Tage im Brütschranke wachsen gelassen, da die Termine der Hämolysinproduktion von Neisser und Wechsberg derart festgestellt waren, daß am 4. Tage die Produktion beginnt, zwischen dem 10.—14. Tage den Höhepunkt erreicht, um dann nicht mehr zuzunehmen, vielmehr gewöhnlich zu fallen.

Nach diesem 9.—13. Tage also wurde die Bouillon durch ein Reichel-Filter gelassen, das Filtrat mit einer Karbollösung versetzt (10 Karbol, 20 Glycerin, 70 Aqua, davon 5 auf 100 Filtrat) und im Eisschranke aufbewahrt, wo es sich monatelang aktiv hält. Bei der Prüfung auf Hämolysin wurden sodann verschiedene Mengen des Filtrates in Röhrchen gethan, diese mit einer 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt, die Röhrchen auf 2 Stunden in den Brütschrank nach Zusatz eines Tropfens frischen defibrinierten Kaninchenblutes gestellt und hierauf über Nacht im Eisschranke belassen. Hierauf konnten die Resultate notiert werden. Es folgte dann noch die Prüfung auf Thermostabilität und Neutralisation durch spezifisches Antistaphylolysin des gefundenen Hämolysins.

Es wurde nun durch solche Versuche konstatiert, daß einmal verschiedene Staphylokokkenstämme sehr in der Menge des Staphylolysins variierten, daß Hämolysinproduktion und Virulenz für Mensch und Kaninchen unabhängig voneinander zu sein schienen, ferner, daß das Hämolysin durch eine Temperatureinwirkung von 56° 20 Minuten hindurch zerstört, bei 48° schon geschädigt wird, „daß das Hämolysin ein konstantes Merkmal des typischen Staphylococcus pyogenes aureus ist, und daß es stets nachzuweisen ist, sofern man unter den angegebenen Bedingungen züchtet und untersucht“, woraus folgt, daß die Aurei der Luft, Schleimhäute, des Ekzems, die hämolysierten, in nichts voneinander verschieden sind.

Ferner wurde beobachtet, daß auch die Albus-Stämme, wenn auch nicht so regelmäßig wie die Aureus-Stämme, hämolysierten, und daß das Hämolysin des Staphylococcus aureus und albus ein und dasselbe ist.

Durch Neutralisation des Staphylolysins mit verschiedenen Pferdesera, die gegen Tetanus, Diphtherie, Schweinerotlauf, nicht aber gegen Staphylolysin immunisiert waren und keine Schutzkraft gegenüber dem Hämolysin aufwiesen, ferner durch die Schutzkraft von Kaninchenserum gegenüber dem Staphylolysin, das gegen dieses künstlich immunisiert war, das aber wieder gegen die Auflösung des Tetanolysins nicht schützt, wurde die Verschiedenheit dieser Gifte bewiesen.

Neisser und Wechsberg konnten auch ein künstliches Antistaphylolysin bei Kaninchen, wie vorhin schon angedeutet, durch 2—3-malige subkutane Injektion einer verhältnismäßig kleinen Toxinmenge (0,2 ccm) eines starken Giftes erzeugen. Die Tiere reagierten darauf mit Fieber und induriertem Infiltrat an der Injektionsstelle.

Was die Konstitution des Hämolysins belangt, so wiesen Neisser und Wechsberg eine Aehnlichkeit mit dem Tetanus- und Diphtherietoxin nach in Bezug auf die Zusammensetzung durch eine haptophore und toxophore Gruppe.

Bei meinen Versuchen wurde als Nährboden eine Extraktbouillon verwandt, die nach Neisser und Wechsberg eine Alkalität $^2/_6$ besaß, d. h. also es wurden nur $^2/_6$ derjenigen Menge von Natron carbonicum zugesetzt, die nötig war, um die Bouillon bis zum Phenolphtaleïnpunkt vollständig zu alkalisieren.

Für die Streptokokkenstämme, sowie für den Bacillus pyocyaneus und Micrococcus tetragonus wurde eine 2 Proz. Pepton enthaltende Extraktbouillon verwandt, um ein kräftigeres Wachstum zu erzielen; auch sie besaß die Alkalität $^2/_6$. Um einer Täuschung vorzubeugen, wurden von jeder Bouillonart nicht besäte Röhrchen in Bezug auf ihre hämolytische Wirkung geprüft: sie war durchweg negativ. Aus obigem Grunde mußte bei den Streptokokken auf eine Traubenzuckerbouillon verzichtet werden, da diese hämolysierte.

Sämtliche zu den Versuchen verwandte Stämme waren von mir selbst herausgezüchtet und von Einzelkolonieen abgeimpft, so daß sicher Reinkulturen vorlagen; eine Ausnahme von obiger Regel fand nur bei den Streptokokkenstämmen statt, aber auch hier wurde durch die mikroskopische Kontrolle, sowie Aussäen der Streptokokkenkulturen auf Traubenzuckerbouillon und von hier auf Loeffler'sches Serum, wobei stets die Bouillon klar blieb und auf dem Loeffler'schen Serum ein gleichmäßiges Wachstum sich zeigte, für die Reinheit der Stämme garantiert.

Die Herkunft der einzelnen Staphylokokkenstämme ist folgende:

Staphylococcus aureus 1 und Staphylococcus albus 3 wurden aus den Lungen zweier an eiteriger Leptomeningitis gestorbener Patienten gewonnen.

Staphylococcus aureus 2 und 6 wurden aus den Lungen zweier an Scarlatina gestorbener Kinder gezüchtet.

Staphylococcus aureus 5, 8, 10 wurden aus der Leber von an Scarlatina gestorbenen Kindern gewonnen.

Staphylococcus aureus 9 wurde aus dem Rachenabstrich eines an Diphtheritis erkrankten Kindes gezüchtet.

Staphylococcus aureus 12 aus dem Rachenabstrich eines an Scarlatina erkrankten Kindes.

Staphylococcus aureus 13 wurde aus einem Absceßeiter isoliert.

Staphylococcus albus 15 ließ sich aus dem Urethralsekret eines an einem längere Zeit bestehenden Ausfluß leidenden Patienten reinzüchten, der eine Gonorrhöe gehabt hatte, bei dem aber jetzt Gonokokken weder kulturell noch einfach mikroskopisch nachweisbar waren.

Staphylococcus aureus 16 rührte aus Buboneneiter bei Ulcus molle her, Staphylococcus aureus 17 aus Buboneneiter bei Gonorrhöe.

Staphylococcus albus 19 stammte aus dem Herzblut eines an chronischem Marasmus eingegangenen Meerschweinchens, dem zum Nachweis von Tuberkelbacillen intraperitoneal eine Milchprobe injiziert war.

Staphylococcus albus 4, 11, 18, Staphylococcus aureus 7 und 14 stammten aus der Luft.

Die Diphtheriestämme waren von Rachenabstrichen gewonnen, die dem Institut zur Untersuchung auf Diphtherie im Monate März d. J. zugegangen waren.

Von den Streptokokkenkulturen rührt Stamm 1 aus der Milz eines an Scarlatina gestorbenen Kindes her; die übrigen Stämme wurden von Rachenabstrichen von an Scarlatina erkrankten Patienten gewonnen.

Der Bacillus pyocyaneus fand sich auf einem ausgedehnten Unterschenkelekzem, wo er neben Staphylococcus albus und aureus und Diplococcus catarrhalis vorkam.

Der Micrococcus tetragonus wurde aus dem Sputum eines an Husten und Auswurf leidenden und auf Tuberkulose verdächtigen Patienten gewonnen, wo er in Reinkultur zu finden war.

Die Herkunft der übrigen noch untersuchten Bakterienstämme wird unten nebenbei erwähnt werden.

Von den verschiedenen Blutarten wurde nach dem Beispiel von Neisser und Wechsberg ungewaschenes defibriniertes Kaninchenblut gewählt, gewonnen durch einen Einschnitt am Ohr, so daß ein kleinerer Venen- oder Arterienast getroffen wurde. Vom Menschenblut konnte eine deutlich in die Augen fallende antihämolytische Wirkung beobachtet werden.

Die Resultate wurden mit folgenden Werten bezeichnet im Anschlusse an das Vorgehen von Neisser und Wechsberg: Komplett, fast komplett, inkomplett, ganz rot, starke Kuppe, Kuppe, Spur, Null (0).

Komplett hieß das Resultat, wenn nach dem Umschütteln keinerlei korpuskuläre Elemente als Trümmer der Erythrocyten in der Bouillon mehr mikroskopisch nachweisbar waren. Dadurch, daß bei meinen Versuchen nicht filtrierte Bouillonröhrchen zur Anwendung kamen, wie unten genauer beschrieben werden wird, und dadurch, daß diese größtenteils einen Bodensatz aus niedergefallenen Bakterien aufwiesen, wurde die Beurteilung der Resultate etwas erschwert.

Nachdem bei einem Stamm von Staphylococcus aureus ein beträchtliches Schwanken der Hämolysinmenge innerhalb von 24 Stunden beobachtet worden war, wurde die definitive Art der Untersuchung derart angestellt, daß 12—14 Tage hindurch täglich von jedem Bakterienstamme ein Bouillonröhrchen besät wurde, worauf Blutzusatz am 13. oder 15. Tage erfolgte, so daß Kulturen von dem Alter von 1—12 oder 14 Tagen von jedem einzelnen Stamme vorlagen, die der Reihe nach um 24 Stunden im Alter sich unterschieden.

Die Röhrchen waren mit einer Bouillonmenge von 5 ccm beschickt, hierzu kam dann ein Tropfen Kaninchenblut aus einer auf 16 Tropfen geaichten Pipette, um ein vergleichendes Resultat über die Hämolysinmenge verschiedener Stämme zu gewinnen.

Was zunächst die Staphylococcus-Stämme betrifft, so zeigen sie nicht nur untereinander ein sehr verschiedenes Verhalten in der Menge des überhaupt gebildeten Hämolysins, was schon Neisser und Wechsberg beobachteten, sondern zweitens auch beträchtliche Verschiedenheit, was den Zeitpunkt betrifft, an dem das Maximum des Hämolysins gebildet wird, schließlich ist ein beträchtliches Schwanken in der Hämolysinmenge innerhalb von 2 Wochen in der Aufeinanderfolge von Tag zu Tag bei ein und demselben Stamme zu bemerken.

Verschiedenheit der überhaupt produzierten Hämolysinmenge bei den einzelnen Stämmen.

Sta. aureus 1 inkomplett	Sta. aureus 2 fast komplett	Sta. aureus 3 fast komplett	Sta. albus 4 komplett
Sta. aureus 5 komplett	Sta. aureus 6 fast komplett	Sta. albus 7 fast komplett	Sta. aureus 8 fast komplett
Sta. aureus 9 ganz rot	Sta. aureus 10 fast komplett	Sta. aureus 11 Spur	Sta. aureus 12 komplett
Sta. aureus 13 inkomplett	Sta. aureus 14 Spur	Sta. aureus 16 komplett	Sta. aureus 17 komplett

Es erstreckt sich also die Differenz in der Hämolysinmenge bei den verschiedenen Stämmen auf ein Schwankungsgebiet von dem Werte „komplett“ bis zu dem Werte „Spur“.

Die Lage des Hämolysinmaximums an verschiedenen Tagen innerhalb der Beobachtungszeit von 2 Wochen bei den einzelnen Stämmen soll folgende Tabelle verdeutlichen:

Stamm	Tag	Stamm	Tag	Stamm	Tag
Sta. aureus 1	6 u. 7	Sta. aureus 2	6	Sta. aureus 3	6—9
Sta. albus 4	14	Sta. aureus 5	12	Sta. aureus 6	7
Sta. albus 7	12—14	Sta. aureus 8	3, 5—11	Sta. aureus 9	12
Sta. aureus 10	5—10, 12	St. albus 11	7	Sta. aureus 12	8 u. 14
Sta. aureus 13	7 u. 8, 12 u. 13	Sta. aureus 14	6	Sta. aureus 16	10—13
Sta. aureus 17	13				

Nach obiger Tabelle ergiebt sich, daß das Maximum ungefähr vom 6. bis zum 14. Tage auftreten kann, und zwar scheint bei einer Reihe der Stämme das Maximum schon am 6. bis zum 9. Tage aufzutreten im Gegensatz zu Neisser und Wechsberg, bei der 2. Reihe durchschnittlich vom 10. bis zum 14. Tage; in 2 Fällen ist das Maximum schon sehr früh in den ersten Tagen zu verzeichnen gewesen (Staphylococcus aureus Stamm 8 und 10).

Die Schwankung des Hämolysinwertes von Tag zu Tag ist besonders ausgesprochen bei Stamm 1, 4, 5, 6, 9, 12, 13, 17; ihr Verhalten ist aus den unten folgenden Kurven ohne weiteres ersichtlich; erwähnt muß besonders werden der plötzliche Anstieg zum Werte komplett bei Stamm 1, 4 und 5; das plötzliche Sinken innerhalb 24 Stunden nach erreichtem Maximum bei Stamm 5 von komplett bis inkomplett, bei Stamm 9 von inkomplett bis Spur, bei Stamm 6 von fast komplett bis Spur, bei Stamm 12 von komplett bis inkomplett, in weiteren 24 Stunden bis Spur; bei Stamm 17 von inkomplett bis Spur; bei einzelnen Stämmen findet dann wieder nach dem Sinken des Wertes ein mehr oder minder schnelles Steigen statt, so daß die Kurve tiefe Remissionen zeigt oder ein auffallend zackiges Aussehen gewinnt, wie bei Stamm 6, 12, 17 dies besonders zu beobachten ist.

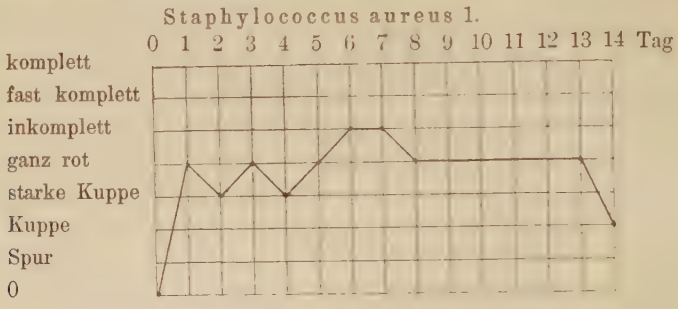
Dieses plötzliche Schwanken des Hämolysierungswertes kann bei der Beurteilung der Resultate zu beträchtlichen Irrtümern führen, da es besonders sich auch zu einer Zeit zeigt zwischen dem 9. und 13. Tage, wo Neisser und Wechsberg die Untersuchung auf Hämolysin anraten; wir sehen z. B. bei Stamm 4 plötzlichen Anstieg in der Zeit vom 13. zum 14. Tage von 0 bis komplett, bei Stamm 17 von ganz rot bis komplett, bei Stamm 6 von 0 bis inkomplett; oder ein ähnliches plötzliches Sinken der Kurve findet gerade zu dieser Zeit statt.

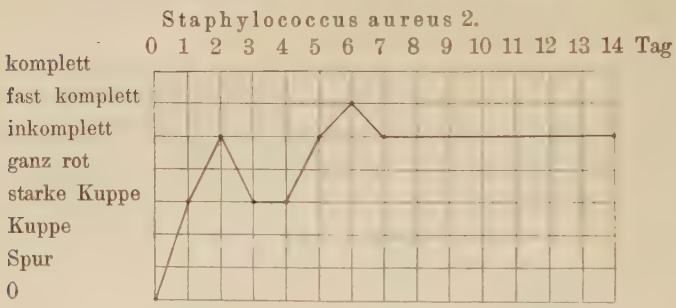
Andere Kurven zeigen ein mehr gleichmäßiges An- und Absteigen (Stamm 10, 12, 13, 16); bei anderen ist hervorzuheben das Verbleiben

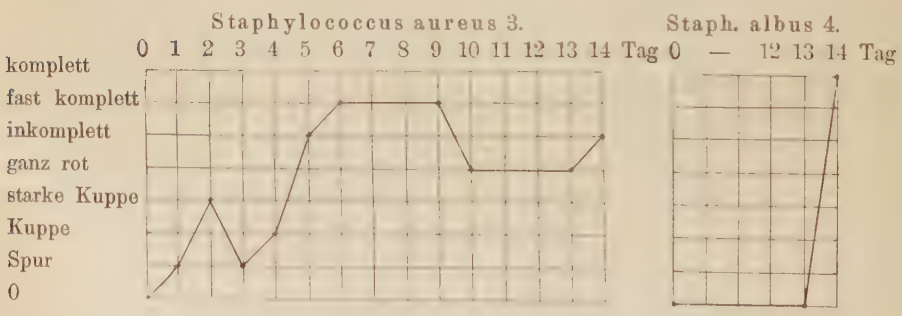
des Maximums auf demselben Werte durch Tage hindurch wie bei Stamm 3, 10, 12, 13, 16.

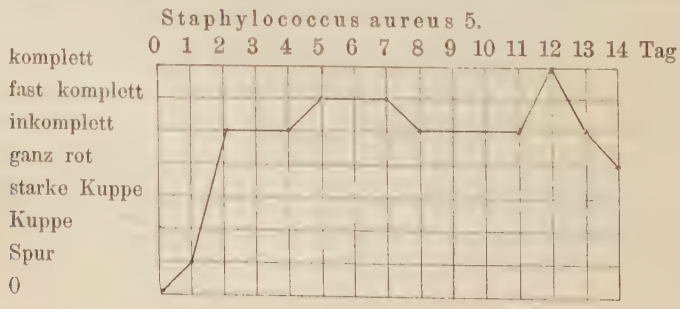
Bei sicherer Beurteilung der Hämolysinproduktionsfähigkeit der einzelnen Stämme müßten diese Eigentümlichkeiten der Kurve erst genauer festgestellt werden.

Gar nicht hämolysierten von den Staphylokokkenstämmen nur die Albus-Stämme 15, 18 und 19, während Staphylococcus albus 11 und 14 Spuren von Hämolysierung am 7. resp. am 6. Tage aufwiesen.

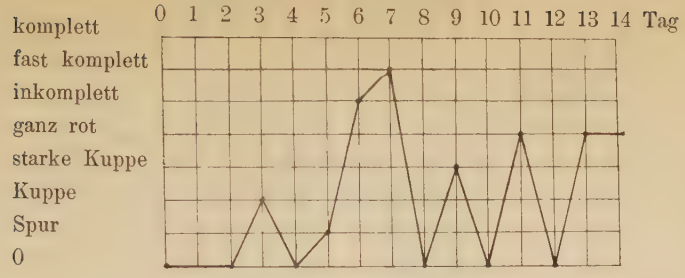




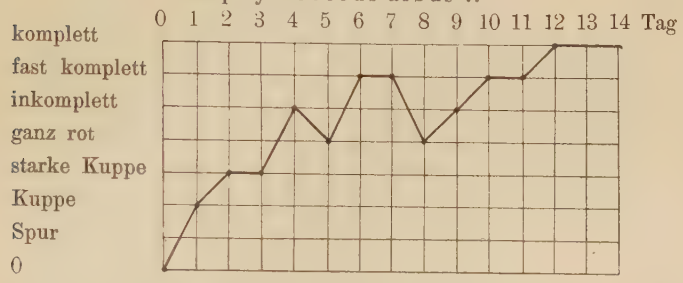




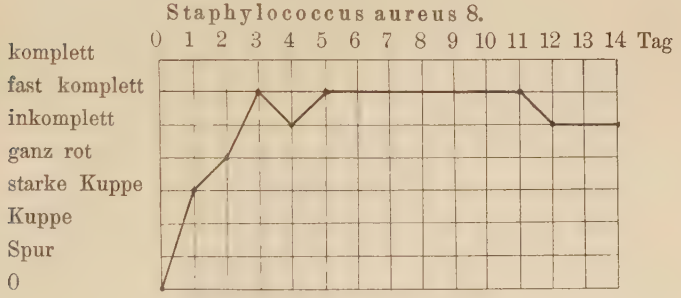
Staphylococcus aureus 6.



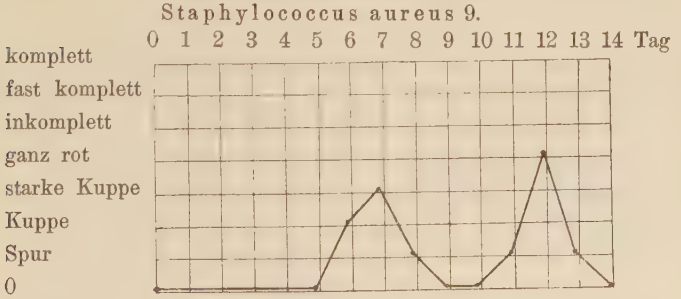
Staphylococcus albus 7.



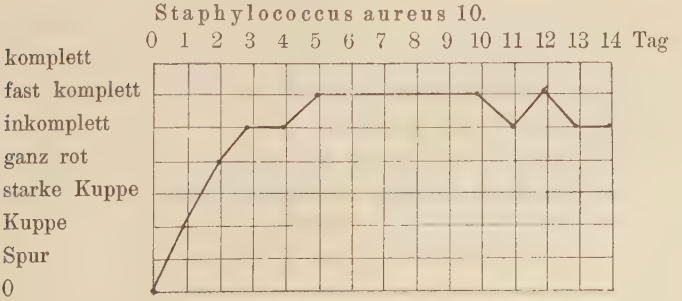
Staphylococcus aureus 8.



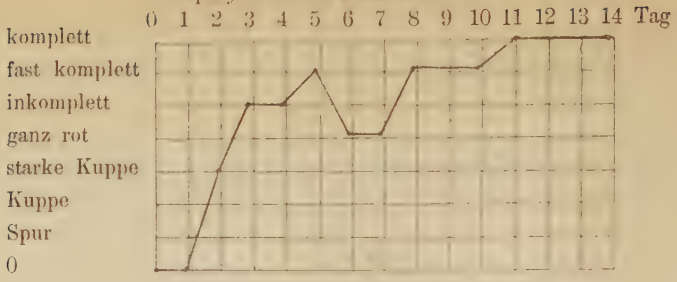
Staphylococcus aureus 9.



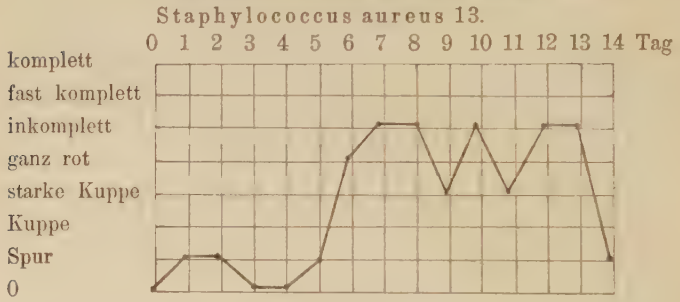
Staphylococcus aureus 10.



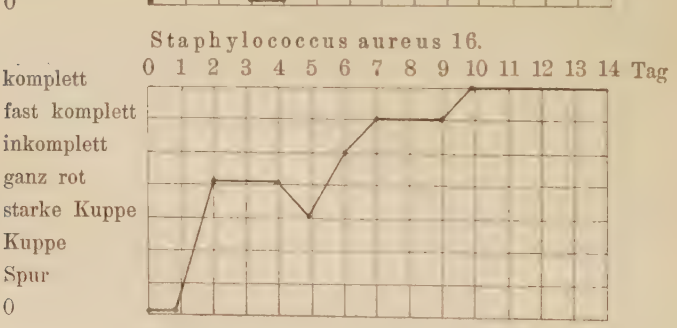
Staphylococcus aureus 12.



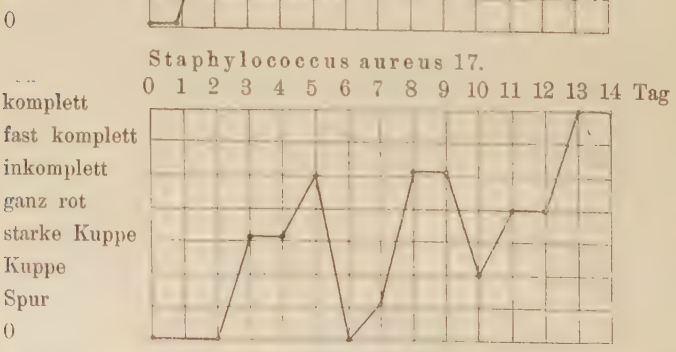
Staphylococcus aureus 13.



Staphylococcus aureus 16.



Staphylococcus aureus 17.



Durch die Thatsache, daß sämtliche Aureus-Stämme mehr oder minder gut hämolysierten, wird die oben angeführte Behauptung von Neisser und Wechsberg bestätigt, „daß das Hämolysin ein konstantes Merkmal des typischen Staphylococcus pyogenes aureus ist".

Auch bei diesen Versuchen ließ sich ein Unterschied zwischen den verschiedenen Aureus-Stämmen aus der Luft, von dem Ekzem, aus Eiter nicht auffinden.

Von den 7 Diphtheriestämmen hämolysierten 6 Stämme; die Menge des überhaupt produzierten Hämolysins bei den einzelnen Stämmen war auch hier verschieden.

Stamm 1	Stamm 2	Stamm 4	Stamm 5	Stamm 6	Stamm 7
komplett	starke Kuppe	starke Kuppe	fast komplett	komplett	ganz rot

Der Schwankungsbezirk des Maximums lag also hier zwischen den Werten starke Kuppe und komplett.

Was die Lage des Maximums anbelangt, so finden wir sie auch unregelmäßig auf die einzelnen Tage innerhalb von 2 Wochen verteilt.

Stamm 1	Stamm 2	Stamm 4	Stamm 5	Stamm 6	Stamm 7
10.—11. Tag	9. Tag	10. Tag	11.—13. Tag	3. Tag	1.—8. Tag

Ein besonders langes Verharren des Maximums der Hämolysinproduktion über mehrere Tage zeigt Stamm 7, wo sich dieses 7 Tage hindurch auf dem Werte ganz rot hält; plötzliches steiles Ansteigen und Sinken der Kurve ist auch bei den Diphtheriestämmen zu verzeichnen, besonders bei Stamm 1, 5, 6, 7, wo der Wert innerhalb 24 Stunden von 0 bis inkomplett (Stamm 1 und 5) oder von 0 bis fast komplett (Stamm 6) oder von 0 bis ganz rot (Stamm 7) ansteigt. Ein steiler Abfall innerhalb 24 Stunden springt besonders bei Stamm 6 in die Augen, von komplett bis ganz rot, von hier bis 0.

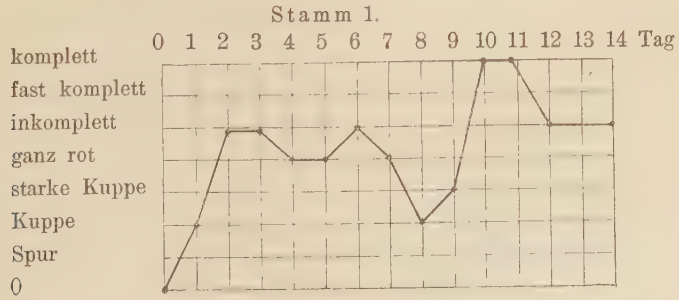
Ueberhaupt zeigen die einzelnen Kurven, die das Hämolysinbildungsvermögen der Diphtheriebacillen zum Ausdruck bringen, dieselben Eigentümlichkeiten, die bei den Staphylokokken auftraten.

Diphtheriestamm No. 3 hämolisierte nicht, auch er war von dem Rachenabstrich eines unter Diphtherieverdacht erkrankten Kindes gezüchtet worden; dagegen zeigte er abweichendes Verhalten von den übrigen Stämmen, indem erstens die Neisser'sche Doppelfärbung so gut wie nicht auftrat, zweitens die in 24 Stunden gebildete Säuremenge in Bouillon weit hinter dem Normalen zurückblieb.

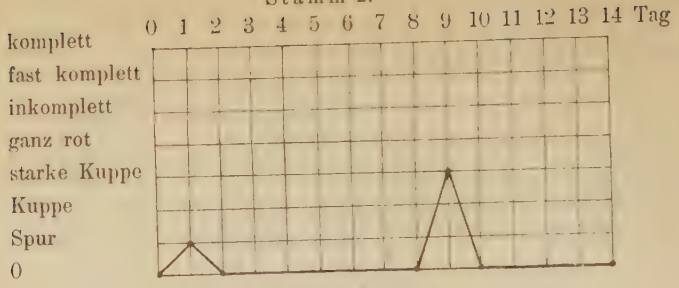
Dieser Umstand im Vergleich mit der Thatsache, daß 2 Xerosestämme (gewonnen von der Conjunctiva bei akuter Conjunctivitis) auch nicht hämolysierten, verleiht dem Hämolysinbildungsvermögen der Diphtheriebacillen gegenüber den Pseudodiphtheriebacillen ein differentialdiagnostisches Moment.

Inwieweit die Annahme, daß nur die Diphtheriebacillen ein Hämolysin bilden, richtig ist, muß durch die vergleichende Untersuchung einer größeren Zahl von Stämmen festgestellt werden.

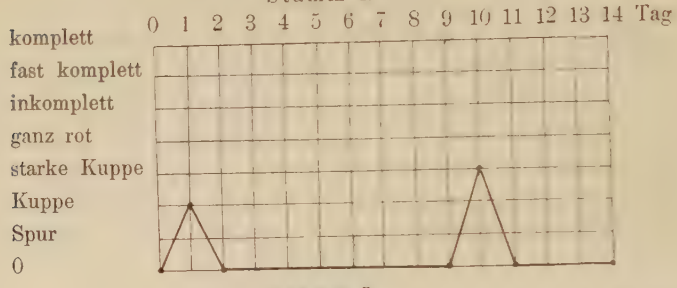
Zu erwähnen ist noch, daß bei sämtlichen Diphtheriestämmen das Hämolysierungsvermögen in mehr oder minder hohem Grade schon am 1. Tage nachweisbar war, wie die folgenden Kurven es darstellen.



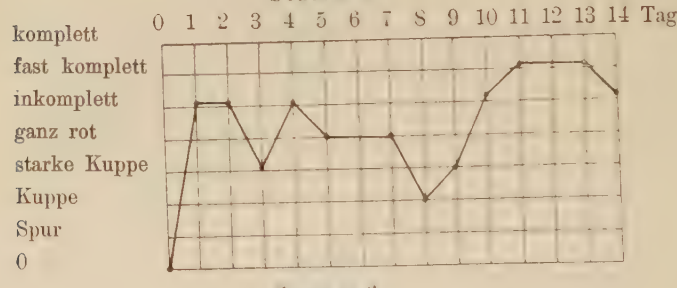
Stamm 2.



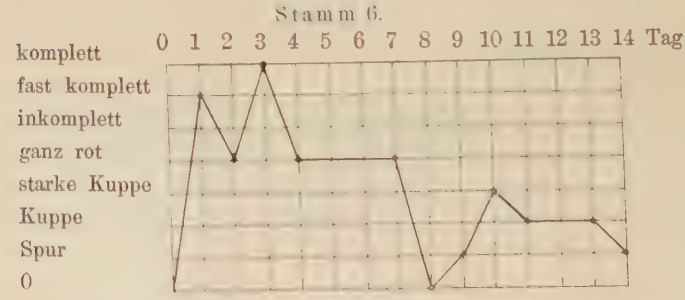
Stamm 4.



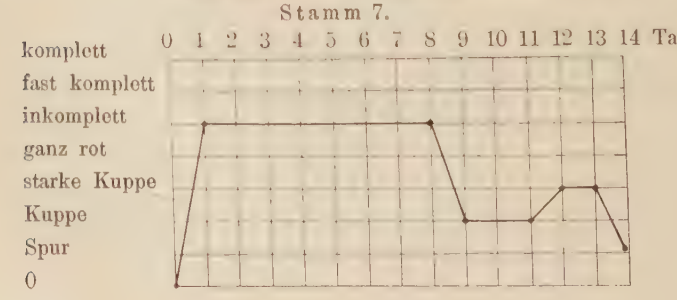
Stamm 5.



Stamm 6.



Stamm 7.



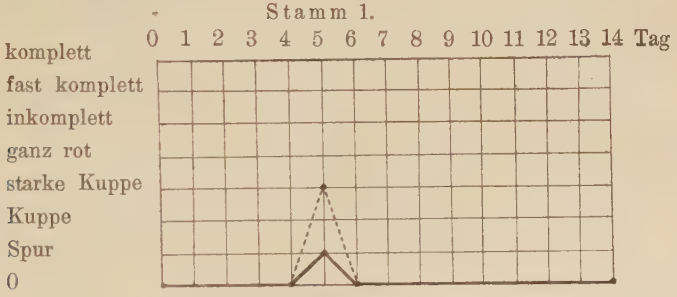
Die Streptokokkenstämme, die nach dem Vorgehen von Neisser und Wechsberg behandelt wurden, d. h. 2 Stunden nach dem Blutzusatz in den 37 °-Schrank, dann über Nacht in den Eisschrank kamen, zeigten ein sehr schwaches oder gar kein Hämolisierungsvermögen, es wurden durchweg nur die Werte „eine Spur“ erreicht, und zwar nur an einzelnen Tagen der 2. Woche.

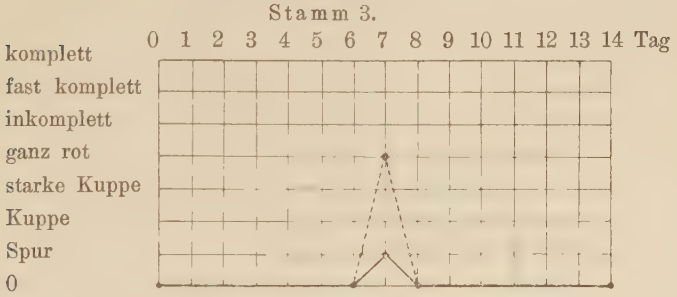
Nachdem aber einzelne Röhrchen der Stämme noch auf 48 Stunden der Brütschrankwärme von 37° ausgesetzt wurden, war durchweg eine Zunahme des Hämolysierungsvermögens zu verzeichnen, so daß die Werte ganz rot oder starke Kuppe zu verzeichnen waren.

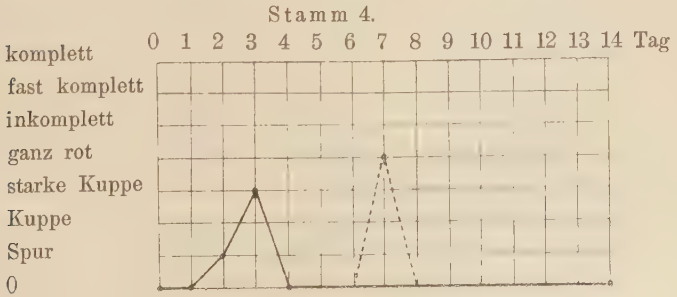
Diese Zunahme ist in den einzelnen Kurven gestrichelt aufgeführt, da sie ohne Zusammenhang mit den voraufgehenden und folgenden Tagen steht, das plötzliche Zunehmen und Abfallen also nicht der Wirklichkeit entspricht.

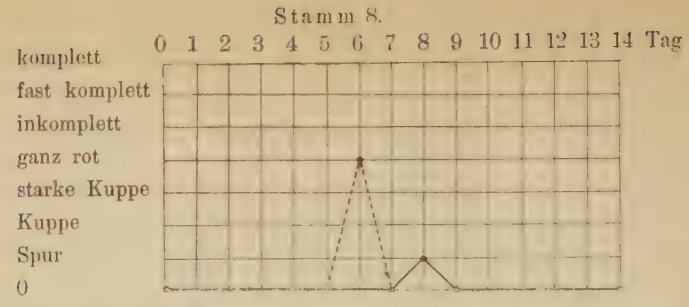
Trotzdem blieb das Hämolysierungsvermögen der Streptokokken hinter dem der Staphylokokken und Diphtheriebacillen beträchtlich zurück.

Die Streptokokkenstämme 2 und 6 ließen sogar gar keine Hämolysierung nachweisen.

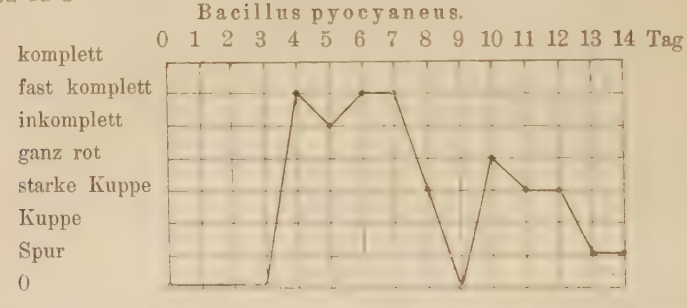








Ein sehr starkes Hämolysierungsvermögen, wobei der Wert „fast komplett“ erreicht wurde, neben starkem Schwanken der Kurve zeigte der Bacillus pyocyaneus, der aus einem Ekzem gezüchtet wurde, wo er neben Staphylococcus aureus und albus und dem Diplococcus catarrhalis (Stamm 2) vorkam. Besonders soll der Anstieg am 4. Tage von 0 zu dem Werte fast komplett innerhalb 24 Stunden und der ebenso schroffe Abfall am 7. Tage von fast komplett zu 0 innerhalb 24 Stunden erwähnt werden, es folgt dann noch am 10. Tage ein Anstieg von 0 bis ganz rot innerhalb 24 Stunden, sodann allmählicher Abfall.



Zur Untersuchung auf Hämolysierung erhielt ich ferner von Herrn Dr. Petruschky ein Pyocyaneus-Gift überwiesen.

Der Bacillus pyocyaneus, der Urheber dieses Giftes, war aus Verbandmaterial eines Abscesses herausgezüchtet; mit diesem wurde am 10. Oktober 1899 eine Flasche mit ca. 400 ccm Bouilloninhalt beimpft; das Gift war also 21 Monate alt.

Der Inhalt der Flasche sieht schmutzig dunkelgrün aus, ist trüb, obwohl ein Aufrühren des Bodensatzes aufs vorsichtigste vermieden wurde; der Boden der Flasche ist mit graugelbem Niederschlage bedeckt; die Flüssigkeit ist sehr zähflüssig und bildet lange Schleimfäden.

Von diesem Inhalte wurden 5 ccm vorsichtig, so daß ein Aufsteigen des Bodensatzes vermieden wurde, mit steriler Pipette entnommen und in ein Röhrchen gelassen; hierzu erfolgte dann Blutzusatz, und zwar waren diese 5 ccm Pyocyaneus-Gift imstande, 5–8 Tropfen frischen defibrinierten Kaninchenblutes komplett zu hämolysieren innerhalb einer Zeit von 48 Stunden, während der das Röhrchen der Brütschrankwärme von 37 ° ausgesetzt wurde.

Das Hämolysierungsvermögen dieses Giftes war also ein enormes.

Auffallend ist dabei die Thatsache, daß dieses Pyocyaneus-Gift stark alkalisch war; auf rotem Lackmuspapier brachte ein Tropfen eine

intensive Blaufärbung hervor; in Lackmusbouillon und Lackmusmolke rief ein Tropfen des Giftes eine deutliche alkalische Reaktion hervor; der Alkalitätsgrad wurde durch Titrieren mit $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure (Indikator: Phenolphtaleïn) genau festgestellt. Zu diesem Zwecke wurde eine geringe Menge des Giftes in neutralem destillierten Wasser gelöst; wichtig war, daß die ganze Menge der in das Wasser gebrachten zähen Flüssigkeit durch langes Umrühren, wobei ein starker Schaum sich bildete, zur Lösung kam.

Hierbei ergab sich, daß zur Neutralisierung von 100 ccm des Giftes 30 ccm Normalschwefelsäure notwendig waren.

Es wurden sodann noch 10 ccm des Giftes in einem Röhrchen mit $^1/_{10}$ Normalsalzsäure neutralisiert und hierauf die hämolytische Wirkung des Pyocyaneus-Giftes geprüft; dabei stellte sich heraus, daß diese 10 ccm des auf den Lackmuspunkt neutralisierten Giftes eine schwächere hämolytische Wirkung besaßen, als das nicht neutralisierte Gift.

Hervorzuheben wäre noch, daß auch der Bacillus pyocyaneus, der aus dem Ekzem gezüchtet war, sehr stark Alkali in Lackmusmolke bildete, so daß eine intensiv blaue Farbe auftrat; auch dieser Bacillus besaß, wie schon erwähnt, ein starkes Hämolysierungsvermögen.

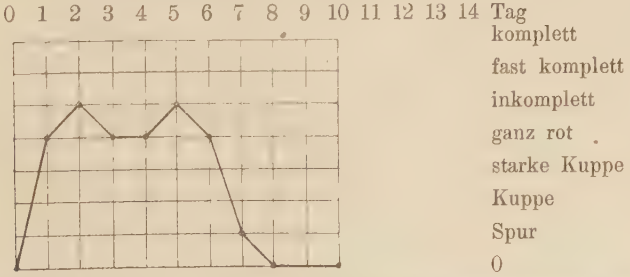
Ueber einen wahrscheinlichen Zusammenhang der Alkalibildung mit dem Hämolysierungsvermögen soll weiter unten gesprochen werden.

Der Micrococcus tetragonus, der nun untersucht wurde, stammte aus einem Sputum, wo er in Reinkultur vorkam; in einer 2 Proz. Pepton enthaltenden Bouillon gedieh er sehr gut.

Bei der Prüfung auf Hämolysinbildung zeigte sich anfangs, daß er dazu nur schwach imstande war; und zwar war die Hämolysinbildung gar nicht nachweisbar, wenn die Röhrchen, die mit dem Micrococcus beimpft waren, 2 Stunden in den 37 °-Schrank, hierauf über Nacht in den Eisschrank nach dem Blutzusatze gestellt wurden; bei weiterem Aufenthalte aber in dem Brütschranke (24 Stunden hindurch) traten Zeichen von Hämolysinbildung auf, und zwar war der Wert „starke Kuppe“ das Maximum der gebildeten Hämolysinmenge. Nach weiterem Aufenthalte von 24 Stunden in dem Brütschranke zeigte sich noch eine weitere Zunahme der Hämolysinmenge, so daß der Wert „inkomplett“ erreicht wurde.

Die Kurve des Micrococcus weist keine besonders starken Schwankungen auf.

Micrococcus tetragonus.



Der Micrococcus tetragonus rief in Lakmusbouillon innerhalb einer Beobachtungszeit von 5 Tagen nur schwache Reduktion hervor, aber auch in dieser Bouillon gedieh er gut.

Die weichere Untersuchung erstreckte sich noch auf 2 Stämme von Diplococcus catarrhalis (Pfeiffer); der erste Stamm wurde aus

einem Sputum, wo der Diplococcus in Reinkultur vorkam, herausgezüchtet; der zweite Stamm wurde, wie schon erwähnt, von einem Ekzem des Unterschenkels gewonnen.

Beide Stämme besaßen nur ein schwaches Hämolysierungsvermögen mit dem höchsten Wert „Kuppe", und zwar hämolysierten sie durchweg nur am Ende der 2. Woche.

Auch bei einem Typhusstamm, der sich durch ein ganz besonders intensives Wachstum auf Nähragar auszeichnete, ließ sich bei einer Beobachtungszeit von 8 Tagen am 7. und 8. Tage schwache Hämolysierung nachweisen.

Bei dem Erreger einer Meerschweinchenseptikämie fand sich ebenfalls geringes Hämolysierungsvermögen. Dieses nach Gram sich entfärbende, verhältnismäßig dicke, sehr kurze Stäbchen wuchs auf Agar und Gelatine sehr gut, die Oberfläche mit einem weißen Ueberzug überkleidend; die Gelatine verflüssigte es nicht, Milch gerann nicht trotz einer Beobachtungszeit von mehreren Tagen, in Lakmusbouillon erfolgte Säurebildung, daneben war das Stäbchen ein ziemlich starker Gasbildner.

Gegenüber der Beobachtung, daß ein Stamm von Sarcina lutea, 2 Stämme von Xerosebacillus, ferner daß Stämme von Staphylococcus albus und Diphtherie, die aber von den pathogenen Arten beträchtlich abwichen, kein Hämolysierungsvermögen zeigten, während die pathogenen Stämme mehr oder minder gut Hämolysin bildeten, läßt sich die Frage aufwerfen, ob das Hämolysierungsvermögen nur den pathogenen Schizomyceten zukommt; daß es aber von der Virulenz der einzelnen Stämme nicht abhängig ist, haben schon Neisser und Wechsberg für Staphylococcus aureus nachgewiesen. Zu erwähnen wäre noch, daß bei Staphylokokken, Streptokokken, Diphtheriebacillen, Diplococcus catarrhalis und Pyocyaneus das Filtrat einzelner Stämme auf das Hämolysierungsvermögen untersucht wurde, analog dem Vorgange von Neisser und Wechsberg, um die Mitwirkung der Schizomycetenleiber bei der Hämolysierung auszuschließen; die so gewonnenen Resultate stimmten mit den Proben, die ohne Filtrieren der Bouillon angestellt waren, vollständig überein.

Noch einmal soll hervorgehoben werden, daß auch nach diesen Versuchen der echte Staphylococcus pyogenes aureus stets hämolysierte, während von den Albus-Stämmen in regelmäßiger Weise dies nicht der Fall war.

Zu erklären wäre auch noch die Ursache des so plötzlichen Abnehmens des Hämolysierungsvermögens einzelner Stämme.

Nachdem ferner von Neisser und Wechsberg die Verschiedenheit des Staphylolysins vom hämolysierenden Diphtherietoxin bewiesen ist, dagegen das Hämolysin des Staphylococcus pyogenes aureus und albus sich als identisch erwies, wäre noch zu entscheiden, was für eine Stellung die Hämolysine der Streptokokken, des Bacillus pyocyaneus, des Diplococcus catarrhalis (Pfeiffer), des Typhus abdominalis zu obigen Giften und untereinander einnehmen.

Das Zusammentreffen hohen Hämolysierungsvermögens mit starker alkalischer Reaktion der bakteriellen Stoffwechselprodukte, wie es namentlich bei dem Pyocyaneus beobachtet wurde, legte den Gedanken nahe, daß es möglicherweise relativ einfache chemische Bakterienprodukte, wie Ammoniak und dergleichen seien, welche das Hämolysierungsvermögen der Bakterienkulturen wenn auch nicht ganz bedingen, so doch wenigstens einen wesentlichen Anteil daran haben.

Aus Veranlassung von Herrn Dr. Petruschky untersuchte ich daher auch das Hämolysierungsvermögen einiger chemischer Stoffe, die in Bakterienkulturen vorkommen, so Ammoniak, Milchsäure, Alkohol und Glycerin, ferner Natron carbonicum und Traubenzucker.

Diese Stoffe wurden in einer auf den Lakmuspunkt neutralisierten Nährbouillon, die also an und für sich nicht hämolysierte, gelöst und zwar in dem Prozentgehalt 4, 2, 0,5, 0,1.

Das größte Hämolysierungsvermögen zeigte hierbei das Natron carbonicum, von dem 4 und 2 Prozent komplett einen Tropfen frischen defibrinierten Kaninchenblutes auf 5 ccm Bouillon auflösten; 0,5 Proz. löste fast komplett und 0,1 Proz. eine Spur.

Sehr stark war auch das Hämolysierungsvermögen von Acidum lacticum und besonders Ammoniak, den beiden häufigsten Bakterienprodukten.

Von Acidum lacticum hämolysierten 4 Proz. komplett, 2 Proz. inkomplett, 0,5 Proz. starke Kuppe, 0,1 Proz. eine Kuppe.

Von Ammoniak hämolysierten 4 und 2 Proz. komplett, 0,5 und 0,1 Proz. ganz rot.

Traubenzucker hämolysierte in einem Gehalt von 4—0,5 Proz. eine Spur, in einem Gehalt von 0,1 Proz. kaum noch. Alkohol hämolysierte in einem Gehalt von 4 Proz. eine Spur, ebenso wie Glycerin bei einem Gehalt von 4 und 2 Proz.; 0,5 und 0,1 Proz. hämolysierten nicht mehr.

Es ist anzunehmen, daß besonders die Bildung von Alkali seitens der Schizomyceten einen wichtigen Anteil an der Hämolysierung nehmen, inwieweit die chemische Reaktion einer Bouillonkultur und die Bildung von Toxinen sich gegenseitig bei der Hämolysierung unterstützen, bleibt dahingestellt.

Besonders ist das Zusammentreffen von starker Hämolysierung und starker Alkalibildung bei den beiden untersuchten Stämmen von Bacillus pyocyaneus in die Augen springend; auch von einzelnen Staphylokokkenstämmen war gute Alkalibildung in Lakmusbouillon nachweisbar, dagegen bildeten die hämolysierenden Diphtheriestämme sowohl in Lakmusmolke wie Lakmusbouillon Säure.

Herrn Dr. Petruschky bin ich für die Ueberweisung des Themas und für die Hilfe während der Ausführung zu ergebenem Danke verpflichtet.

Lebenslauf.

Ich, Carl Anton Wilibald Lubenau, Sohn des verstorbenen prakt. Arztes Dr. med. F. Lubenau aus Trempen, bin am 12. Mai 1877 zu Trempen in Ostpreußen geboren. Ich besuchte nach einem $^3/_4$-jährigen Privatunterricht das Königl. Wilhelms-Gymnasium zu Königsberg i. Pr. von Oktober 1885. Dieses verließ ich mit dem Zeugnis der Reife Ostern 1896, um in Königsberg i. Pr. Medizin zu studieren. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich Ostern 1898 ebendaselbst; im Januar 1901 beendigte ich mein Staatsexamen, um eine Assistenzarztstelle an der bakteriologischen Anstalt in Danzig vom 1. März 1901 anzunehmen.

Während meines Studiums hörte ich die Vorlesungen folgender Herren Professoren und Docenten:

M. Askanazy, S. Askanazy, Braun, Braatz, Caspary, v. Eiselsberg, v. Esmarch, Franke, Falkenheim, Gerber, Hermann, Heisrath, Jaffé, Kuhnt, Lange, Leutert, Lichtheim, Lossen, Luerssen, Lühe, Meschede, Neumann, Pape, Pfeiffer, Ritthausen, Rosinski, Samter, Seydel, Samuel, Schreiber, Stetter, Stieda, Thiele, Tolkiehn, Winter, Zander, denen ich an dieser Stelle meinen Dank ausspreche.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.